

## Tidak ada perbedaan respon imun perokok berat dan perokok ringan karena asupan mikronutrien

Mohammad Zen Rahfiludin<sup>1</sup>, Praba Ginandjar<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Background:** Smoking may affect cytokine levels, including IFN- $\gamma$ , IL-6, and IL-10.

**Objectives:** This study aimed to analyze the difference in levels of cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-6 and IL-10) based on the degree of smoking, and how the daily intake of nutrient influence the relationship of smoking with cytokines level.

**Method:** This was a cross sectional study. Study subject consisted of 23 adult, healthy, smoker men. Ethical clearance was issued by Commission of Ethics of Medical and Public Health Research, Faculty of Public Health Diponegoro University. Smoking variabel was obtained from questions. Level of cytokines examined consists of IFN- $\gamma$ , IL-6 and IL-10 was measured using ELISA (pg/dl). Nutritional intake was measured by method of 2x24-hour recall. The difference of level of IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-10 and daily nutrient intake based on smoking degree was analyzed with Mann Whitney ( $\alpha$  0,05).

**Result:** The result showed no difference in level of IFN- $\gamma$ , IL-6 and IL-10 found between group of light and heavy smokers. In the group of heavy smokers, daily nutrient intake was higher compare to light smokers. However, the significant difference only found in vitamin C ( $p = 0.042$ ).

**Conclusion:** Immune response, as measured by level of interferon gamma, interleukin 6 and interleukin 10, do not differ between light and heavy smokers due to micronutrient intake

**Keywords:** heavy smoker, light smoker, interferon gamma, interleukin 6, interleukin 10

### PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara dengan perokok aktif terbanyak di dunia. Lebih dari sepertiga populasi (34,7 %) dengan usia 15 tahun ke atas adalah perokok (Kemenkes, 2010). Merokok merupakan faktor risiko kematian bagi penderita penyakit jantung, kanker dan COPD (Ezzati dan Lopez, 2003). Komponen dalam rokok seperti nikotin, memiliki efek immunosupresif dengan cara menghambat respon imun *innate* dan *adaptive* (Sopori, 2002), sehingga merokok dapat mempengaruhi kadar sitokin seperti interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), interleukin-6 (IL-6), dan interleukin-10 (IL-10). IFN- $\gamma$  adalah sitokin yang berfungsi mengaktifasi makrofag baik pada respon imun *innate* maupun *adaptive*. IL-6 adalah sitokin yang menstimulasi pertumbuhan antibodi yang dihasilkan dari limfosit B, sedangkan IL-10 berfungsi memelihara homeostatik dan kontrol dari *innate* and reaksi *cell-mediated immune* (Abbas dan Lichtman, 2011).

Penelitian sebelumnya sudah banyak membandingkan status imun antara perokok dan bukan perokok, tetapi masih sedikit yang membandingkan antara perokok berat dan perokok ringan. Penelitian yang menghubungkan zat gizi dengan perokok juga masih jarang, tetapi beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar vitamin A dan vitamin C perokok lebih rendah dibandingkan yang bukan perokok (Preston, 1991; Yilmaz *et al.*, 2009).

Kadar seng serum perokok juga lebih rendah dibandingkan yang tidak merokok (Bashar dan Mitra, 2004). Pada penelitian ini, kami ini membandingkan kadar sitokin berdasarkan tingkat keparahan merokok dan bagaimana hubungan asupan zat gizi terhadap kadar sitokin pada perokok tersebut.

### METODE DAN BAHAN

Penelitian ini adalah penelitian *cross sectional* yang melibatkan 23 orang dewasa sehat yang merokok. Penelitian ini telah mendapat ijin dari Komisi Etik Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro, Semarang.

Skor derajat keparahan merokok diperoleh dengan menanyakan: (1) Berapa batang rokok per hari yang dikonsumsi (skor 2 jika  $\geq 20$  batang/hari, skor 1 jika 10-19 batang/hari dan skor 0 jika kurang dari 10 batang/hari); (2) Sudah berapa lama merokok (skor 2 jika  $\geq 20$  tahun, skor 1 jika 10-20 tahun, dan skor 0 jika kurang dari 10 tahun); (3) Jenis rokok yang dikonsumsi (skor 1 jika rokok kretek atau *non-filtered*, dan score 0 jika rokok *filtered/mild cigarettes*); (4) Apakah di dalam

<sup>1</sup>Bagian Gizi Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro (UNDIP), Semarang, Jawa Tengah.

<sup>2</sup>Bagian Epidemiologi, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro (UNDIP), Semarang, Jawa Tengah.

satu rumah, ada anggota keluarga yang juga merokok (skor 2 jika ada lebih dari 1 orang, skor 1 jika ada 1 orang dan skor 0 jika tidak ada). Rentang skor derajat keparahan merokok adalah dari 0 sampai 7. Skor 0-3 dikategorikan sebagai perokok ringan dan skor 4-7 dikategorikan perokok berat.

Sitokin yang diukur adalah IFN- $\gamma$  eBioscience CAT: BMS228HS), IL-6 (R&D System (CAT: HS600B), IL-10 (R&D System CAT: HS100C). Pengukuran sitokin dengan menggunakan metode ELISA dan dilakukan di Laboratorium Prodia. Asupan gizi diukur dengan metode recal 2 X 24 jam.

Uji normalitas data dengan Shapiro Wilks test. Perbedaan kadar IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-10 dan asupan gizi antara perokok berat dan perokok ringan diuji menggunakan Mann Whitney test dengan tingkat kepercayaan 95%.

## HASIL

Rerata umur subyek adalah 35 tahun ( $\pm 12$ ). Sepuluh subyek dikategorikan perokok ringan dan 13 orang dikategorikan perokok berat. Tidak ada perbedaan kadar IFN- $\gamma$ , IL-6 dan IL-10 diantara perokok ringan dan perokok berat (Tabel 1). Pada perokok berat, asupan mikronutrien lebih tinggi dibandingkan kelompok perokok ringan (Tabel 2). Hanya asupan vitamin C saja yang berbeda bermakna diantara ke dua kelompok ( $p = 0.042$ ).

## PEMBAHASAN

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa merokok dapat menurunkan kadar IFN- $\gamma$ , baik pada perokok aktif maupun pasif.

Kadar IFN- $\gamma$  paling rendah pada perokok berat (Hagiwara *et al.*, 2001). Orang tua perokok menyebabkan penurunan ekspresi dan produksi IFN- $\gamma$  pada anak-anak mereka (Tebow *et al.*, 2008; Kohli *et al.*, 2012). Merokok juga menurunkan ekspresi gen dan sekresi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, sementara ekspresi sitokin anti-inflamasi (contohnya IL-10) tidak terpengaruh (Mortaz *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2007). Penelitian kami menunjukkan tidak ada perbedaan kadar sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi diantara perokok berat dan perokok ringan. Hasil ini bertentangan dengan beberapa penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Tebow, Kohli, Hagiwara dan Mortaz. Hal ini kemungkinan karena perbedaan kriteria derajat keparahan merokok serta perbedaan metode pengukuran kadar sitokin. Tebow mengukur produksi IFN- $\gamma$  dengan *peripheral blood mononuclear cell* yang distimulasi mitogen. Kohli mengukur ekspresi IFN- $\gamma$  Hagiwara mengukur sekresi IFN- $\gamma$  dari cairan bronchoalveolar dan Mortaz mengukur IL-6 dari *plasmacytoid* sel dendrit manusia. Kadar IFN- $\gamma$ , IL-6 dan IL-10 pada penelitian kami langsung diukur dari serum perokok. Metode pengukuran kadar sitokin yang dilakukan pada penelitian kami juga merupakan keterbatasan penelitian ini, meskipun kami telah berusaha untuk memilih subyek laki-laki dewasa yang sehat melalui kuesioner skrining. Kemungkinan lain tidak ada perbedaan kadar sitokin antara perokok berat dan perokok ringan pada penelitian kami karena asupan gizi mikro pada kedua kelompok perokok tersebut. Pada perokok berat, asupan vitamin A, vitamin C dan seng lebih tinggi dibandingkan perokok ringan.

Tabel 1. Perbedaan kadar IFN- $\gamma$ , IL-6 and IL-10 antara perokok berat dan perokok ringan

Variabel	Perokok berat (n = 13)	Perokok ringan (n =10)	p <sup>a</sup>
IFN- $\gamma$ (pg/mL)	0.080 $\pm$ 0.078	0.085 $\pm$ 0.158	0.453
IL-6 (pg/mL)	1.029 $\pm$ 1.082	1.190 $\pm$ 1.304	0.620
IL-10 (pg/mL)	0.345 $\pm$ 0.417	0.345 $\pm$ 0.286	0.532

Keterangan: Median  $\pm$  Standart deviasi; <sup>a</sup> = Mann Whitney test

Tabel 2. Perbedaan asupan zat gizi mikro antara perokok berat dan perokok ringan

Zat gizi mikro	Perokok berat (n=13)	Perokok ringan (n=10)	p <sup>a</sup>
Vitamin A ( $\mu$ g)	501 $\pm$ 295	140 $\pm$ 323	0.145
Vitamin C (mg)	36.1 $\pm$ 30.5	8.4 $\pm$ 15.9	0.040
Zinc (mg)	3.2 $\pm$ 1.5	2.7 $\pm$ 1.8	0.153

Keterangan: Median  $\pm$  Standart deviasi; <sup>a</sup> = Mann Whitney test

Vitamin C melindungi DNA sel dari kerusakan yang disebabkan radikal bebas dan mutagen (Iqbal *et al.*, 2004). Vitamin C merupakan stimulan berfungsinya leukosit, terutama netrofil dan monosit. Seng merupakan mikromineral yang juga bersifat sebagai anti oksidan. Dismutasi dari O<sub>2</sub> ke H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dikatalisasi oleh enzim *Super Oxide Dismutase* (SOD), yang mengandung seng dan tembaga. Seng juga menginduksi produksi *metallothionein*, yang merupakan pembersih OH (Prasad, 2008). Vitamin C dan seng meningkatkan beberapa parameter komponen pertahanan tubuh seperti aktifitas sel *natural killer* dan proliferasi limfosit (Wintergerst *et al.*, 2006).

## KESIMPULAN

Tidak ada perbedaan kadar IFN- $\gamma$ , IL-6 dan IL-10 diantara perokok berat dan perokok ringan, kemungkinan karena disebabkan asupan mikronutrin yang lebih baik pada perokok berat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH. 2011. Basic immunology functions and disorders of the immune system, third edition. Philadelphia: Saunders Elsevier,
- Bashar SK, Mitra AK. 2004. Effect of smoking on vitamin A, vitamin E and other trace elements in patients with cardiovascular diseases in Bangladesh: a cross-sectional study. *Nutrition Journal*. 3(1): 18.
- Chen H, Cowan MJ, Hasday JD, Vogel SN, Medvedev AE. 2007. Tobacco smoking inhibits expression of proinflammatory cytokines and activation of IL-1R-associated kinase, p38, NF $\kappa$ B in alveolar macrophages stimulated with TLR2 and TLR4 agonists. *The Journal of Immunology*. 179(9): 6097-106.
- Ezzati M, Lopez AD. 2003. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet*. 362(9378): 847-52.
- Hagiwara E, Takahashi KI, Okubo T, Ohno S, Ueda A, Aoki A, et al. 2001. Cigarette smoking depletes cells spontaneously secreting th<sub>1</sub>cytokines in the human airway. *Cytokine*. 14(2): 121-6.
- Iqbal K, Khan A, Khattak MMAK. 2004. Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health-a review. *The Pakistan Journal of Nutrition*. 3(1): 5-13.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2010. Riset Kesehatan Dasar,
- Kohli A, Garcia MA, Miller RL, Maher C, Humblet O, Hammond SK, et al. 2012. Secondhand smoke in combination with ambient air pollution exposure is associated with increased CpG methylation and decreased expression of IFN  $\gamma$  in T effector cells and Foxp3 in T regulatory cells in children. *Clinical Epigenetics*. 4(1): 17.
- Mortaz E, Lazar Z, Koenderman L, Kraneveld AD, Nijkamp FP, Folkerts G. 2009. Cigarette smoke attenuates the production of cytokines by human plasmacytoid dendritic cells and enhances the release of IL-8 in response to TLR-6 stimulation. *Respiratory Research*. 10: 47.
- Prasad AS. 2008. Clinical, immunological, anti – inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Experimental Gerontology*. 43(5): 370-7.
- Preston AM. 1991. Cigarette smoking-nutritional implications. *Progress in Food & Nutrition Science*. 15(4): 183-217.
- Sopori M. 2002. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nature Review Immunology*. 2(5): 372-7.
- Tebow G, Sherrill DL, Lohman C, Stern DA, Wright AL, Martinez FD et al. 2008. Effects of parental smoking on interferon  $\gamma$  production in children. *Pediatrics*. 121: e1563-e1569.
- Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. 2006. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Annal Nutrition Metabolism*. 50(2): 85-94.
- Yilmaz G, Agras PI, Hizli S, Karacan C, Besler HT, Yurdakok K, et al. 2009. The effect of passive smoking and breast feeding on serum antioxidant vitamin (A, C, E) levels in infants. *Acta Paediatrica*. 98(3): 531-6.